

ДИНАМИКА РАСПРОСТРАНЕНИЯ КЛАСТЕРА BEIJING B0/W148 *M. TUBERCULOSIS* НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ ЗА ДЕСЯТИЛЕТНИЙ ПЕРИОД НАБЛЮДЕНИЯ (2012–2021 гг.)

Суркова Л. К., Слизень В. В., Иванова А. Л.

Государственное учреждение

«Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии»,
г. Минск, Республика Беларусь

Реферат. Проведено исследование 474 клинических изолятов *M. tuberculosis* (МБТ), полученных из образцов мокроты пациентов с активным туберкулезом, постоянных жителей Республики Беларусь в период с 2012 по 2021 г.

Принадлежность штаммов *M. tuberculosis* к генетическому семейству Beijing кластерам B0/W148 и 94-32 определяли на основе характерных специфических молекулярных маркеров с помощью мультиплексной ПЦР-РВ и стандартной ПЦР с праймерами NS1, RV2665R, W139F2.

Установлено, что циркулирующая на территории Республики Беларусь популяция *M. tuberculosis* относится к различным генетическим семействам с доминированием штаммов генетического семейства Beijing, на долю которого приходилось от 64,93 % (2012–2013 гг.) до 67,08 % (2020–2021 гг.).

В структуре семейства Beijing *M. tuberculosis* всех клинических изолятов доля штаммов кластера B0/W148 Beijing возросла с 56,0 % в 2012–2013 гг. до 67,59 % в 2016–2018 гг. и осталась неизменной на прежнем уровне в период пандемии COVID-19 (2020–2021 гг.) — 67,59 %.

Ключевые слова: *M. tuberculosis*, генетическое семейство Beijing, кластер B0/W148, динамика распространения.

Введение. В последние годы в Республике Беларусь на фоне снижения заболеваемости туберкулезом населения и смертности от него продолжает сохранять актуальность проблема множественно и широко лекарственно устойчивого туберкулеза (МЛУ/ШЛУ). По данным статистической отчетности за 2022 г. МЛУ-ТБ среди впервые выявленных пациентов составлял 35,5 %, среди ранее леченных пациентов — 60,0 %, при этом было зарегистрировано 572 и 181 случаев МЛУ-ТБ среди впервые выявленных и ранее леченных пациентов соответственно. В

Беларуси доля ШЛУ-ТБ в 2022 г. в структуре лекарственно-устойчивого ТБ среди впервые выявленных пациентов составляла 10,8 % (2019 — 17,1 %), среди ранее леченных — 26,5 % (в 2019 — 49,8 %), при этом за последнее время произошло перераспределение структуры устойчивости МБТ в сторону увеличения доли пре-ШЛУ МБТ с устойчивостью к фторхинолонам (2019 — 9,4 %, 2022 — 18,4 % (впервые выявленные пациенты), 2019 — 13,5 %, 2022 — 33,7 % (ранее леченные)), что диктует необходимость выявления генотипов и подтипов *M. tuberculosis*

с МЛУ, пре-ШЛУ, ШЛУ, получающих эпидемическое распространение.

Многочисленные исследования, проведенные за последнее время, показали, что в структуре популяции МБТ в России преобладают штаммы генетического семейства Beijing (от 50 до 80 %), для которых доказана высокая степень ассоциации с множественной лекарственной устойчивостью [1, 2]. Проведенный в 2018–2019 гг. в Республике Беларусь скрининг МБТ генотипа Beijing свидетельствует о доминировании этого генотипа среди изолятов МБТ: на его долю приходилось $61,7 \pm 7,1$ % изолятов МБТ, выделяемых от пациентов с впервые выявленным ТБ. Циркуляция данного генотипа зарегистрирована в Минской, Могилевской, Гомельской, Гродненской областях ($51,85 \pm 9,62$, $66,27 \pm 10,38$, $85,71 \pm 15,93$, $55 \pm 23,28$ % изолятов соответственно) с преобладанием в Могилевской и Гомельской областях ($p < 0,05$) [3]. Микобактерии генотипа Beijing неоднородны, и среди них выделяют древние и современные линии. К современной линии относятся активно распространяющиеся в странах постсоветского пространства подтипы генотипа Beijing: B0/W148 и 94–32 (среднеазиатский/российский клон) [1, 2]. Наиболее распространенный кластер B0/W148 считается наиболее «успешным» клоном генотипа Beijing с территориально-ассоциированным характером распределения [1, 3].

Изучение частоты и динамики распространения кластера B0/W148 генетического семейства Beijing *M. tuberculosis* в Беларуси является актуальным для выявления региональных клинико-эпидемиологических особенностей туберкулеза, вызываемого им, и разработки программ контроля и снижения заболеваемости туберкулезом.

Цель работы — изучить динамику распространения кластера B0/W148 генетического семейства Beijing *M. tuberculosis* на территории Республики Беларусь за десятилетний период наблюдения (2012–2021 гг.).

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ результатов генотипирования клинических изолятов *M. tuberculosis*, полученных из образцов мокроты 474 пациентов с активным туберкулезом (мужчин — 349 (73,62 %), женщин — 125 (26,37 %), постоянных жителей Республики Беларусь за

три сравниваемых периода 2012–2013 гг. ($n = 77$ штаммов *M. tuberculosis*), 2016–2018 гг. ($n = 236$ штаммов *M. tuberculosis*) и 2020–2021 гг. ($n = 161$ штамм *M. tuberculosis*).

Пациенты проходили лечение в клинике РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии в разные годы в период с 2012 по 2021 г. Возраст пациентов составил от 16 до 85 лет.

С впервые выявленным туберкулезом было 246 пациентов, с рецидивами — 86, после первого неэффективного лечения — 22, после повторного неэффективного лечения — 49, после перерыва — 10, переведено из других категорий — 6, отрыв от лечения — 2, прибывших — 2, неудача в лечении — 2 пациента. Ко-инфекция ВИЧ выявлена у 37 пациентов с туберкулезом.

Клинические формы туберкулеза органов дыхания были представлены преимущественно инфильтративным туберкулезом — 72,1 % (342/474). Фиброзно-кавернозный туберкулез был у 7,59 % (36/474), диссеминированный — у 8,86 % (42/474), очаговый туберкулез и туберкулома — у 6,1 % (29/474), казеозная пневмония — у 1,8 % (9/474), внелегочные формы туберкулеза — у 3,37 % (16/474) пациентов.

Идентификацию и выделение чистых культур *M. tuberculosis* проводили в Республиканской референс-лаборатории согласно руководству по лабораторной диагностике туберкулеза.

Выделение ДНК. ДНК микобактерий экстрагировали путем нагревания суспензии МБТ при 98 °С — 20 мин в 5%-м Chelex-100 и 1xTAE буфере с последующим центрифугированием 13 000 g — 20 мин.

Определение МБТ генотипа Beijing и подтипа B0/W148. С помощью ранее описанного метода мультиплексной ПЦР в реальном времени с парными гидролизными зондами [3] идентифицировали МБТ генотипа Beijing. Для выявления МБТ, принадлежащих к генотипу Beijing подтипу B0/W148, использовали экспресс-метод мультиплексный ПЦР в реальном времени, идентифицирующий этот подтип по мутации gca95gcg в гене *var12a* (*Rv1720c*) [4].

Определение лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* проводили с помощью метода абсолютных концентраций на питательной среде Левенштейна — Йенсена и в автоматизированной системе Bactec

MGIT960 (Vecton Dickinson, США) и молекулярно-генетическими методами (тест Xpert MTB/Rif, Cepheid) и методом гибридизации с линейными зондами (тест-система GenoType MTBDRplus, GenoType MTBsl, Hain LifeScience, Германия).

В исследуемой выборке изолятов выявлены штаммы МЛУ — 105, пре-ШЛУ — 144, ШЛУ — 154, монорезистентные — 3, полирезистентные — 4, лекарственно-чувствительные штаммы — 64.

Для изучения динамики распространения кластера B0/W148 генетического семейства Beijing *M. tuberculosis* выделены 4 группы: I группу составили пациенты, из клинических изолятов которых выделены *M. tuberculosis* кластера B0/W148 — 208 пациентов; II группа включала 89 пациентов с выделением других клонов Beijing; III группу составили 18 пациентов с выделением клона Beijing 94–32; IV группа включала 159 пациентов с выделением дру-

гих генотипов, не относящихся к семейству Beijing. При анализе материалов использовали данные Республиканского регистра «Туберкулез».

Статистическую обработку данных проводили с использованием компьютерных программ Microsoft Excel, Statistica 10.0. Для сравнения достоверности полученных данных использовали критерии χ^2 Пирсона, метод доверительных интервалов. Различия в сравниваемых группах считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. При изучении динамики распространения *M. tuberculosis* кластера B0/W148 генетического семейства Beijing за 10-летний период наблюдения (2012–2021 гг.) установлено, что на территории Беларуси в исследуемых популяциях постоянно доминировали представители генетического семейства Beijing, на долю которых приходилось 66,45 % (315/474) всех изолятов *M. tuberculosis* (таблица).

Таблица — Распространение *M. tuberculosis* генетического семейства Beijing и его кластера B0/W148 в Республике Беларусь за десятилетний период наблюдения (2012–2021 гг.)

Параметр	Штамм <i>M. tuberculosis</i>	Генотип Beijing		В том числе						Генотип Не-Beijing	
				Кластер B0/W148		Кластер 94–32		Другие подтипы			
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
2012–2013 гг.	77	50	64,93	28	56,0	—	—	22	44,0	27	35,06
2016–2018 гг.	236	157	66,52	107	68,15	18	11,46	32	20,38	79	33,47
2020–2021 гг.	161	108	67,08	73	67,59	—	—	35	32,40	53	32,91
Всего	474	315	66,45	208	66,03	18	5,71	89	28,25	159	33,54
χ^2, p_{1-2}	—	$\chi^2 = 0,066, p = 0,798$		$\chi^2 = 2,469, p = 0,117$		—		$\chi^2 = 10,971, p < 0,001$		$\chi^2 = 1,992, p = 0,159$	
χ^2, p_{1-3}	—	$\chi^2 = 0,107, p = 0,744$		$\chi^2 = 1,992, p = 0,159$		—		$\chi^2 = 1,992, p = 0,159$		$\chi^2 = 0,107, p = 0,744$	
χ^2, p_{2-3}	—	$\chi^2 = 0,013, p = 0,909$		$\chi^2 = 0,009, p = 0,924$		—		$\chi^2 = 4,898, p = 0,027$		$\chi^2 = 0,013, p = 0,909$	

Доля генетического семейства Beijing за 10-летний период наблюдения имела тенденцию к росту с 64,93 % в 2012–2013 гг. до 67,08 % в 2020–2021 гг. ($p > 0,05$). Частота встречаемости других генотипов (не-Beijing) за сравниваемые периоды практически характеризовалась незначительной динамикой в сторону снижения и составила 33,54 % (159/474), что значительно выше встречаемости редких генотипов в отдельных регионах России и Европы.

Доля кластера B0/W148 в структуре генетического семейства Beijing составила 66,03 % (95% ДИ: 60,8–71,3). В 2012–2013 гг. удельный вес штаммов кластера B0/W148 среди штаммов генетического семейства Beijing составил 56,0 % (95% ДИ: 42,2–69,8), в период с 2016 по 2018 г. наметилась тенденция к увеличению удельного веса встречаемости B0/W148 до 68,15 % (95% ДИ: 60,9–75,4). Доля другого клона семейства Beijing кластера 94–32 составила только

5,71 %, что ниже встречаемости этого кластера в России [2].

В 2020–2021 гг. в годы пандемии доля кластера B0/W148 в структуре генотипа Beijing оставалась практически на прежнем уровне 67,59 %. На другие генотипы (не-Beijing) приходилось 32,91 % выделенных штаммов *M. tuberculosis*.

Популяция штаммов *M. tuberculosis*, циркулирующая на территории Беларуси, характеризовалась гетерогенностью, значительную долю всех клинических изолятов составляют штаммы генетического семейства Beijing, удельный вес кластера B0/W148 являлся до-

минирующим и имел тенденцию к росту со стабилизацией в период пандемии COVID-19 (2020–2021 гг.).

Кроме кластера B0/W148 генетического семейства Beijing, в этиологической структуре туберкулеза играют определенную роль другие клоны семейства Beijing и другие генотипы, не относящиеся к Beijing.

Установлено, что во всех областях и в г. Минске доминируют в клинических изолятах штаммы кластера B0/W148 генетического семейства Beijing, давая значительные колебания от 36,23 % в Минской до 65,85 % в Гродненской области (рисунок 1).

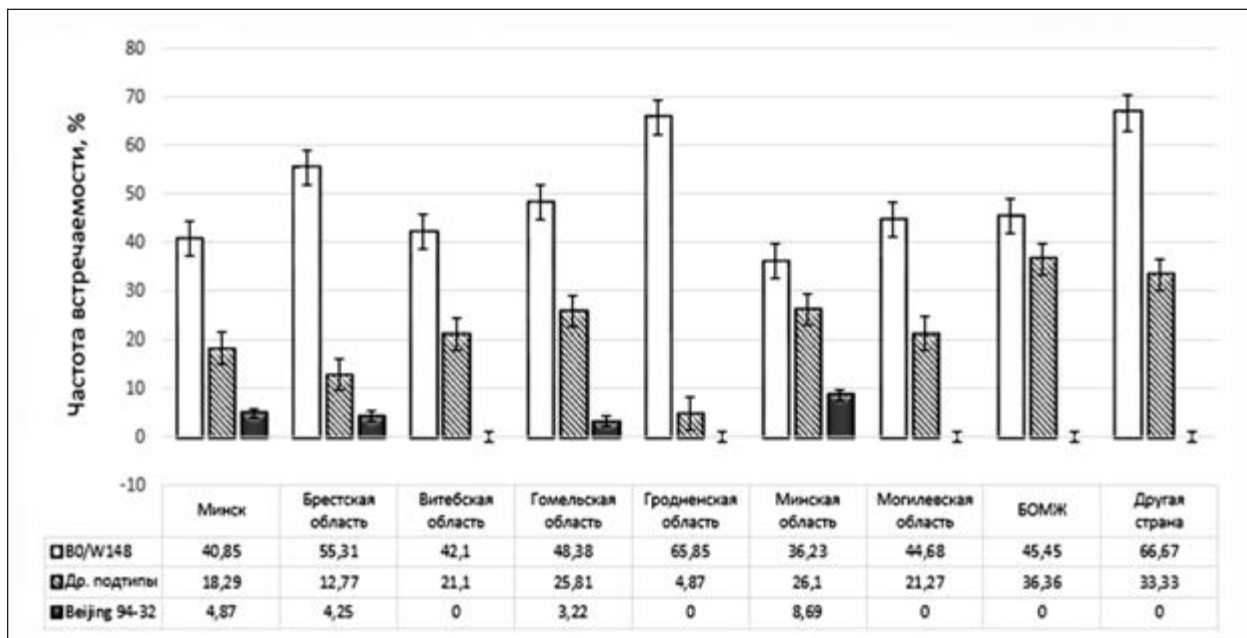


Рисунок 1 — Частота встречаемости кластера B0/W148 генотипа Beijing *M. tuberculosis* в разных регионах Республики Беларусь за период 2012–2021 гг.* (* Нет сведений $n = 23$ пациента.)

Удельный вес выделения кластера B0/W148 Beijing из клинических образцов пациентов жителей г. Минска составил 40,85 % (95% ДИ: 33,3–48,4), что значительно выше, чем в областях, за исключением Брестской и Гродненской областей, где отмечается высокий удельный вес выделенных B0/W148 генетического семейства Beijing (соответственно 55,31 и 65,85 %).

Зарегистрирован высокий удельный вес выделения кластера B0/W148 Beijing среди лиц без определенного места жительства по сравнению с выделением генотипа не-Beijing у данной категории лиц (45,45 и 18,18 % соответственно). Кластер Beijing 94–32 выде-

лялся в единичных случаях в Брестской, Гомельской областях, чаще в г. Минске и Минской области.

На территории всех областей и г. Минска циркулируют другие генетические варианты *M. tuberculosis*, не относящиеся к семейству Beijing, доля которых в общей популяции *M. tuberculosis* отличалась значительной вариабельностью от максимальных значений в Витебской области (36,84 %) до минимальных в Брестской области (27,66 %).

На рисунке 2 представлена частота встречаемости генотипа не-Beijing *M. tuberculosis* в разных регионах Беларуси за период 2012–2021 гг.

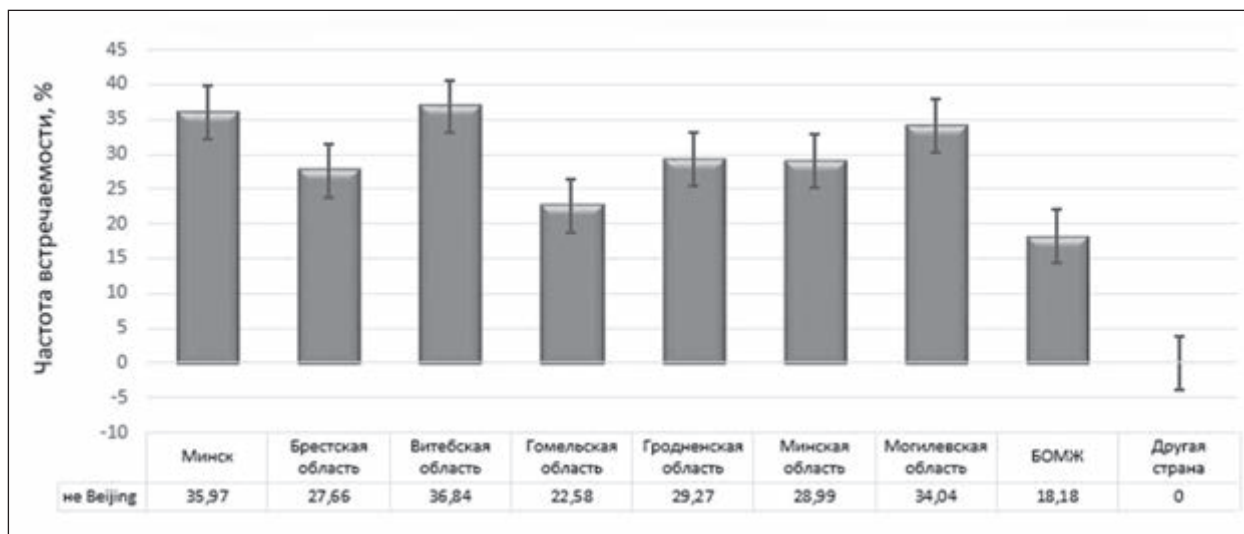


Рисунок 2 — Частота встречаемости генотипа не-Beijing *M. tuberculosis* в разных регионах Республики Беларусь за период 2012–2021 гг.* (* Нет сведений $n = 16$ пациентов.)

Структура популяции *M. tuberculosis* в Беларуси имеет свои особенности. В нашем исследовании выявлено генетическое разнообразие штаммов *M. tuberculosis*, циркулирующих на территории страны с доминированием в популяции *M. tuberculosis* генотипа Beijing. Произошли определенные сдвиги в частоте встречаемого генотипа Beijing в период наблюдения с 2012 по 2021 г., которая возросла с 64,93 % в 2012 г. до 67,08 % в 2021 г. Наблюдается значительное распространение генотипа Beijing в г. Минске и во всех регионах страны.

Известно, что штаммы генотипа Beijing *M. tuberculosis* ассоциированы с лекарственной устойчивостью, утяжелением течения туберкулеза и активацией эпидемического процесса [2, 4].

Установлена генетическая неоднородность генотипа Beijing. Выявлено две современные сублинии Beijing (B0/W148 и кластер 94–32). Удельный вес кластера B0/W148 в структуре генотипа Beijing *M. tuberculosis* составил в среднем 66,03 %, причем наблюдается тенденция к росту его встречаемости с 2012 г. и стабилизация в последние годы.

Кластер B0/W148 характеризуется высоким уровнем патогенности, вирулентности, высокой трансмиссивностью и быстротой формирования лекарственной устойчивости к противотуберкулезным лекарственным средствам [1, 2, 5, 6].

В настоящее время отсутствуют достоверные сведения о происхождении клона B0/W148, по существующей гипотезе предполагают, что данный вариант возник в Сибири.

Что касается кластера 94–32 генотипа Beijing, то небольшой размер выборки не позволяет сделать вывод в отношении его клинико-эпидемиологического значения и требует дальнейшего наблюдения. Высокий уровень распространенности генотипа Beijing его клона B0/W148 в Республике Беларусь согласуется с данными встречаемости этих генетических вариантов в различных регионах России (Сибирь, Северо-Запад России, Урал, Дальний Восток) [2] и свидетельствует о глобальном распространении этих генетических вариантов как на территории России, так и бывших Союзных республик.

На долю туберкулеза, вызванного генотипами *M. tuberculosis*, не относящихся к Beijing, приходится 33,34 %. Это объединенная группа редких генотипов, клиническая и эпидемиологическая значимость их требует дальнейшего изучения. Неблагоприятная эпидемическая ситуация по туберкулезу с МЛУ в Беларуси связана в определенной степени с доминированием эпидемического клона B0/W148 генотипа Beijing в генетической структуре популяции *M. tuberculosis*.

Полученные в последнее время данные свидетельствуют, что штаммы кластера B0/W148 семейства Beijing демонстрируют

различный спектр вирулентности. Недавно были обнаружены два кластера МЛУ древней сублинии Beijing, из которых кластер 14717-15 характеризуется крайне высокой летальностью по сравнению с B0/W148 и генотипами не-Beijing [7].

Углубленное изучение генетической структуры *M. tuberculosis*, постоянный мониторинг за существующими и вновь появившимися генетическими вариантами, ассоциированными с лекарственной устойчивостью, являются важными для проведения персонализированного лечения туберкулеза не только с учетом лекарственной устойчивости, но и с вирулентностью *M. tuberculosis*.

Заключение. Кластер B0/W148 семейства Beijing *M. tuberculosis* широко распространен на территории Республики Бела-

рус, доля штаммов которого в структуре генетического семейства Beijing имеет тенденцию к неуклонному росту и составляет 66,03 %. В Беларуси является актуальным детекция различных генотипов *M. tuberculosis* с оценкой встречаемости и динамики распространения генетических вариантов *M. tuberculosis* в различных регионах с целью прогнозирования распространения МЛУ/ШЛУ-ТБ на различных территориях и определения их клинико-эпидемиологической значимости.

Полученные данные свидетельствуют об особенностях распространения и резервуаре туберкулезной инфекции в Беларуси за счет циркуляции среди популяции *M. tuberculosis* клона B0/W148, играющего ключевую роль в развитии МЛУ-ТБ.

Список цитированных источников

1. Evolutionary history and global spread of the Mycobacterium tuberculosis Beijing lineage / M. Merker [et al.] // Nat Genet. — 2015. — Vol. 47 (3). — P. 242–249. DOI: 10.1038/ng.3195.
2. Prevalence of the epidemic variants of the Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype across Russian regions / I. Mokrousov [et al.] // European Respiratory J. — 2021. — Vol. 58. DOI: 10.1183/13993003.congress-2021.PA1723.
3. Распространенность эпидемического генотипа Beijing и его подтипа B0/W148 *Mycobacterium tuberculosis* на территории Республики Беларусь / В. В. Слизень [и др.] // Здравоохранение. — 2019. — № 9. — С. 62–70.
4. Клинико-эпидемиологические особенности туберкулеза, вызываемого *Mycobacterium tuberculosis* подтипа B0/W148 генетического семейства Beijing / В. В. Слизень [и др.] // БГМУ — в авангарде медицинской науки и практики : сб. науч. тр. — Минск, 2022. — Вып. 12. — Т. 1. — С. 318–324.
5. Исходы заболевания туберкулезом в зависимости от генотипа *Mycobacterium tuberculosis* / О. А. Пасечник [и др.] // Инфекция и иммунитет — 2019. — Т. 9, № 3–4. — С. 531–538.
6. Вирулентность Mycobacterium tuberculosis генотипа Beijing в условиях in vivo / Ю. А. Беспярых [и др.] // Инфекция и иммунитет — 2019. — Т. 9, № 1. — С. 173–182.
7. Impact of pathobiological diversity of Mycobacterium tuberculosis on clinical features and lethal outcome of tuberculosis / I. Mokrousov [et al.] // BMC Microbiology. — 2022. — Vol. 22 (1). DOI: 10.1186/s12866-022-02461-w.

Dynamics of distribution of the beijing b0/w148 M.Tuberculosis cluster on the territory of the republic of belarus over a 10-year observation period (2012–2021)

Surkova L. K., Slizen V. V., Ivanova A. L.

Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Tuberculosis,
Minsk, Republic of Belarus

A study was made of 474 clinical isolates of MBT obtained from sputum samples of patients with active tuberculosis, permanent residents of the Republic of Belarus in the period from 2012 to 2021.



M. tuberculosis strains belonging to the Beijing genetic family of clusters B0/W148 and 94–32 were determined based on characteristic specific molecular markers using multiplex RT-PCR and standard PCR with primers NS1, RV2665R, W139F2.

It has been established that the population of *M. tuberculosis* circulating on the territory of the republic belongs to various genetic families with the dominance of strains of the Beijing genetic family, which accounted for from 64.93 % (2012–2013) to 67.08 % (2020–2021).).

In the structure of the Beijing *M. tuberculosis* family of all clinical isolates, the proportion of B0/W148 Beijing cluster strains increased from 56.0 % in 2012–2013 to 56.0 %. up to 67.59 % in 2016–2018 and remained unchanged at the same level during the COVID-19 pandemic (2020–2021) — 67.59 %.

Keywords: *M. tuberculosis*, Beijing genetic family, B0/W148 cluster, distribution dynamics.

Поступила 02.06.2023